数种昆虫 5S rRNA 结构特点的比较

曹功杰 辜祥荣 江 鹏 冯晓黎 祁国荣
（中国科学院上海生物化学研究所，上海）

摘要 比较已知结构的昆虫 5S rRNA 的核苷酸顺序，发现同科、同目的昆虫比不同科、不同目的昆虫有较少的核苷酸差别。根据 Kimura 和 Ohta(1972) 提出的经验公式，绘制了数种昆虫的系统发育图。结果表明，从分子进化得到的结论和经典分类基本上是一致的。根据 DeWachter 等 (1982) 提出的二级结构模型，归纳分析这些昆虫 5S rRNA，发现保守位点与半保守位点（同一位点仅出现二种核苷酸残基）之和几乎占整个 5S rRNA 分子的 100%。

关键词 5S rRNA 核苷酸顺序 进化 系统发育图

昆虫纲是动物界最大的纲。昆虫还有特殊的繁殖能力，个体数常常也是极大的。此外，昆虫对环境的适应性和可塑性也是很强的，它生活在地面上，土壤中，水下，冰雪里，动植物体内。从热带到两极，以至高山之巅，地球上的任何角落几乎都有昆虫栖息。对于这样种数多，个体多，适应性和可塑性强的昆虫研究其 5 S rRNA 的结构特点，进而研究与进化的关系，无疑会对整个动物界的进化研究有很大帮助。

我们已经测定了蓖麻蚕（曹功杰等，1983；Gu Xian-rong 等，1982）、家蚕和杂交蚕以及柞蚕的 5 S rRNA 的一级结构。此外，其它几种昆虫如果蝇、丽蝇、蚜虫等 5 S rRNA 的一级结构也已经报道（Erdmann 等，1985）。虽然已知 5 S rRNA 顺序的昆虫物种数比起数十万种昆虫来讲是微不足道的，但是，已有的这些数据还是可以说明问题的。我们的研究表明昆虫 5 S rRNA 一级结构的差异大于其他生物，但就其二级结构而言，却具有高度的保守性。一级结构的差异在二级结构上的“消除”，主要表现在一级结构的差异发生在双链区中碱基对的变换，如 A—U 对 ⇌ G—C 对。其结果是昆虫 5 S rRNA 结构中的保守位点（同一位点为相同的核苷酸残基）和半保守位点（同一位点仅出现某二种核苷酸残基）之和几乎达到 100%。

研 究 方 法

1. 采用 DeWachter 等 (1982) 比较 5S rRNA 一级结构的方法，比较已知 5S rRNA 顺序的昆虫的一级结构差异，并依其一级结构之间变异的数量，按照 Kimura 和 Ohta (1972) 提出的数学表达式 $K_{nuc} = -\frac{4}{3}\ln\left(1-\frac{4}{3}\lambda\right)$ 来计算和估计昆虫之间的相对进化距离。

2. 采用 De Wachter 等 (1982) 提出的 5S rRNA 二级结构模型，研究昆虫 5S rRNA 的差异在二级结构中的地位，分析其保守位点，半保守位点情况。并根据我们提出的

本文于 1986 年 2 月收到。

5 S rRNA 进化位点核苷酸变化规律(祁国荣等,1986),分析昆虫 5 S rRNA 进化位点的情况。

结 果 和 讨 论

在漫长的生物进化过程中,生物呈现无比的多样性,除了外界因素外,主要的内因是基因按在统计学上恒定的速率变化着,其基因产物（RNA 或蛋白质）也随着发生规律而变化。但是作为一类具有相同功能的 5 S rRNA 来说,其结构除了绝对的变异性外,也必然具有相对的保守性。我们以昆虫 5 S rRNA 讨论这方面的问题。

1. 昆虫 5 S rRNA 的变异性。

目前测定 5S rRNA 顺序比较多的昆虫是属于鳞翅目的蚕类,比较这些蚕的 5S rRNA 发现,同种蚕的不同品种,5S rRNA 也会有核苷酸差别,即使是同一品种的蚕,5S rRNA 也会不均一。例如,我们测定的 757 品种家蚕和 Komiya 等（1980）测定的未知品种家

```
                                    17     24
家蚕(Komiya等测)  pGCCAACGUCCAUACCAUGUUGAAUACACCGGUUCUCGUCC
家蚕(757品种)      ----------------U------U----------------
杂交蚕             ----------------U------U----------------
蓖麻蚕(曹功杰等测) ----------------C------A----------------
蓖麻蚕(Gu等测)     ----------------C------A----------------
柞蚕               ----------------C------A----------------

                               53       61      69,70
                   GAUCACCGAAGUCAAGCAACAUCGGGCGUGGUCAGUACUU
                   ------------C-------A-------UA----------
                   ------------C-------A-------UA----------
                   ------------U-------G-------CG----------
                   ------------U-------G-------CG----------
                   ------------U-------G-------CG----------

                               93         105,106 111,112  120
                   GGAUGGGUGACCGCCUGGGAACACCACGUGAUGUUGGCUU_OH
                   ------------G-----------UA----AU-------U
                   ------------G-----------UA----AU-------U
                   ------------G-----------CG----UU-------U
                   ------------A-----------CG----CC-------
                   ------------G-----------CG----AC-------U
```

图 1 几种蚕 5S rRNA 的核苷酸顺序

蚕就存在二个核苷酸差别。而曹功杰等(1983)与 Gu Xian-rong 等(1982)分别测定的白黄种蓖麻蚕也有核苷酸的差别，这可能是由于生长发育不同或者 5 S rRNA 的多态性所造成的。类似的情况在果蝇中也有发现(Erdmann 等，1985)。

如果将几种蚕进行比较，发现蓖麻蚕与柞蚕 5 S rRNA 的差别(仅相差 2—3 个核苷酸)比它们与家蚕的差别(7—12 个核苷酸)小得多。分类学把蓖麻蚕与柞蚕都归为天蚕蛾科，而家蚕则归为家蚕蛾科，这与 5 S rRNA 结构分析的结果是一致的。

	家蚕(757) 杂交蚕	家蚕 (Komiya 等)	蓖麻蚕 (曹功杰等)	蓖麻蚕 (辜祥荣等)	柞蚕
家蚕 (Komiya 等)	2				
蓖麻蚕 (曹功杰等)	9	7			
蓖麻蚕 (辜祥荣等)	12	10	4		
柞蚕	9	7	2	3	

表 1　几种蚕 5S rRNA 的核苷酸差异数

我们进一步比较蚕与其它昆虫 5 S rRNA 的差别，除了蓖麻蚕与柞蚕同属一科，果蝇和丽蝇同属双翅目短角亚目环裂部，它们之间 5 S rRNA 相差不大以外，在这些昆虫之间核苷酸差异数可以从 9 个到 18 个，可见它们的差异是比较大的(表 2)。

	家蚕(757)	蓖麻蚕	柞蚕	果蝇	丽蝇	蚜虫
蓖麻蚕	9					
柞蚕	9	2				
果蝇	18	11	13			
丽蝇	18	11	13	1		
蚜虫	12	14	12	16	15	

表 2　几种昆虫 5S rRNA 的核苷酸差异数

如果只考虑一级结构之间变异的数量关系(碱基变换的位点数)，可根据 Kimura 和 Ohta (1972) 提出的数学表达式 $K_{nuc} = -\frac{4}{3}\ln\left(1-\frac{4}{3}\lambda\right)$ 计算和估计昆虫之间的相对进化距离。表 3 是根据计算得到的昆虫几个物种之间以及昆虫纲与甲壳纲之间的平均 K_{nuc} 值，(甲壳纲仅以已测出 5 S rRNA 顺序的卤虫为代表，Diels 等，1981)。设 $\frac{1}{2}K_{nuc}$ 为相对进化距离的度量，可以得到图 2 所示的数种昆虫之间的亲缘关系进化树，证明与经典分类法的结果一致，为昆虫分类和进化研究提供了分子水平的证据。

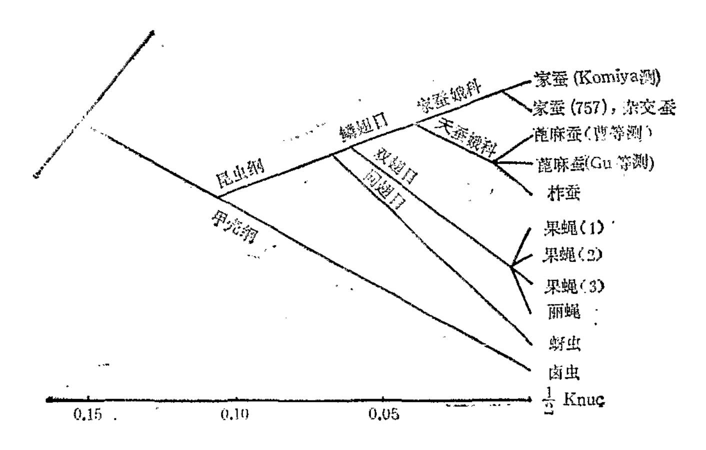


图 2 数种昆虫的相对进化距离及系统发育模型

表 3 各类昆虫间及与甲壳纲之间的平均 K_{nuc}、$\frac{1}{2}K_{nuc}$ 值

	平均 K_{nuc}	平均 $\frac{1}{2}K_{nuc}$
蚕蛾科(家蚕)与天蚕蛾科(蓖麻蚕等)	0.07912	0.040
双翅目(果蝇等)与鳞翅目(家蚕等)	0.1206	0.060
同翅目(蚜虫)与双翅目、鳞翅目	0.1289	0.064
昆虫纲与甲壳纲(卤虫)	0.2165	0.108

冯亚雄等(1985)曾利用上述公式估算了数种昆虫小分子 rRNA 之间位点的碱基替代速率，认为昆虫具有比脊椎动物高一、二倍的变异速率。经我们计算，鳞翅目与双翅目昆虫之间 5 S rRNA 的平均碱基替代速率 (17.1×10^{-11}) 比鱼纲与其他脊椎动物之间的平均碱基替代速率 (13×10^{-11}) 略高一些。但天蚕蛾科与家蚕蛾科之间的平均碱基替代速率则相当高，为 30.4×10^{-11}。昆虫这种变异速度的加快，可能是由于 5 S rRNA 基因在进化过程中受到自然选择(包括人工育种)的压力而造成，这与昆虫对环境具有很强的适应性与可塑性是一致的。

2. 昆虫 5 S rRNA 的保守性

上面谈到昆虫 5 S rRNA 具有较高的变异速率，也就是不同种昆虫 5 S rRNA 有较多的核苷酸差别。但是，按照 DeWachter 等(1982)构建的二级结构模型进行分析，表明昆虫 5S rRNA 的变异有一定的规律。图 3 归纳了图 2 中所列出的 11 种昆虫 5 S rRNA 的结构，从中可以看出，除了对所有真核生物(包括昆虫)共有的保守位点外，昆虫 5 S rRNA 更有其本身独特的保守位点。最近，我们提出 5 S rRNA 中存在进化位点这一概念(祁国荣等，1986)，而这些昆虫 5 S rRNA 在这些位点上也是一样的。总的统计，保守位点占 5 S rRNA 整个分子的 80%以上(见图 3 中的圆圈)。其余位点虽然可变，但绝大部分在同一位点只出现某二种核苷酸残基，即半保守位点。这样，昆虫 5 S rRNA 中的保守位点和半保守位点之和几乎占 100%。

同时，半保守位点大都处在双链区，同时发生碱基对变换，主要是 A—U 对 ⇌ G—C

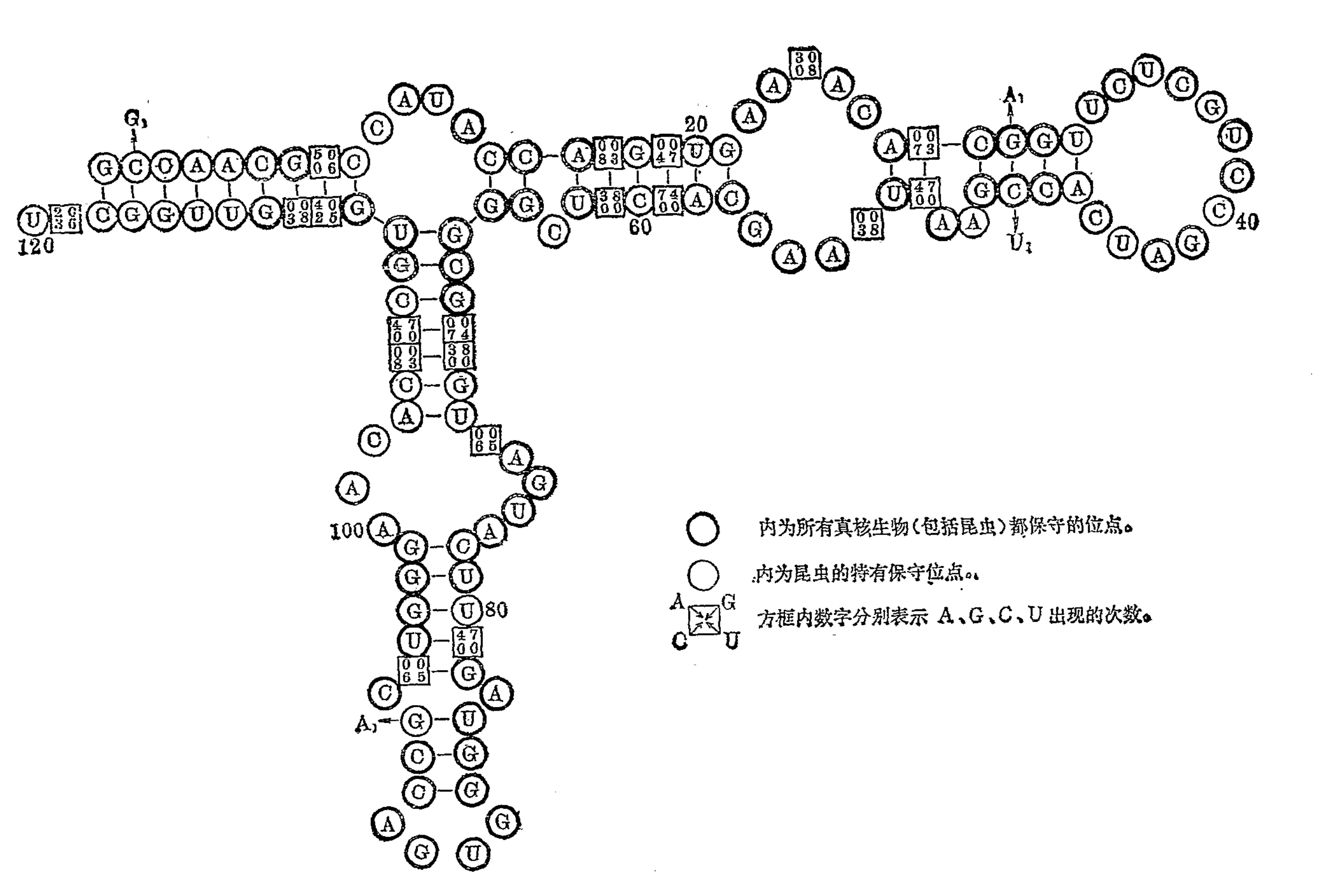


图 3　昆虫 5S rRNA 的保守性结构

对，也有 A—U 对⇌G—U 对和 G—C 对⇌G—U 对。这些变换，基本上不影响昆虫纲 5 S rRNA 二级结构的相似性，其自由能的差异也是很小的。因此，我们说昆虫纲 5 S rRNA 具有高度保守的结构，即其一级结构的差异“消除”在二级结构之中。这种现象，在哺乳动物、高等植物等 5 S rRNA 结构中也有程度不同地存在，表明具有普遍意义。

3. 由于因环境等外界因素的影响而造成的 5 S rRNA 基因变异，并非以完全恒定的速率进行，以及同一种生物实际存在的 5 S rRNA 结构的不均一，还包括同一种生物不同细胞 5 S rRNA 的差异（如爪蟾的体细胞和生殖细胞，Delihas 等，1982），因此，用 Kimura 和 Ohta (1972) 的经验公式得出的结论就不一定很准确，因为我们不能认为同一物种的 5 S rRNA 分属于不同的进化年代。冯亚雄等 (1985) 也指出该公式的局限性。我们比较了近 200 个真核生物 5 S rRNA 的一级结构，并在二级结构模型的框架中，发现了其中某些位点（称之为“进化位点”）与物种的进化密切有关，同时，这些位点与物种进化的关系是“循序渐进”的。进化位点的发现使分子进化研究更精细，更深入（祁国荣等，1986）。当然，由于 5 S rRNA 的分子比较小，所包含的信息量也比较少，5 S rRNA 分子进化位点只能区分生物进化中较大的类群，而细的进化分类则难以进行，显示了信息量不够的问题。例如，在昆虫纲中，已知的 5 S rRNA 进化位点都是一样的，无法用它进行更细的分类。但是，5 S rRNA 进化位点的发现，揭示了一个普遍的规律。我们相信，研究其他更大一些分子的 RNA，直至研究基因，一定会找到更多与进化有关的位点，这将对分子进化研究起一个推动作用。当然，要积累这方面的数据比 5 S rRNA 要困难一些，但随着科学的发展，这也是为期不远的事了。

参　考　文　献

冯亚雄等　1985　昆虫小分子 rRNA 高度异常的变异速率。中国科学 B　**6**: 523—6。

祁国荣等　1986　核糖体 5S rRNA 结构中的进化位点。自然杂志　**9**(5): 396—7

曹功杰等　1983　蓖麻蚕后部丝腺体 5S rRNA 的核苷酸顺序。生物化学与生物物理学报　**15**(5): 40[illegible]—13。

曹功杰等　1988　杂交蚕后代的 5S rRNA 一级结构。昆虫学报　**31**(2): 117—22。

Delihas, N. et al, 1982 Generalized structures of the 5S ribosomal RNAs. *Nucl. Acids Res.* **10**: 7323—44.

De Wachter, R. et al. 1982 Conservation of secondary structure in 5S ribosomal RNA: a uniform model for eukaryotic, eubacterial, archaebacterial and organelle sequences is energetically favourable. *Biochimie.* **64**: 311—29.

Diels, L. et al. 1981 The sequence of the 5S ribosomal RNA of the crustacean *Artemia salina*. *Nucl. Acids Res.* **9**: 5141—4.

Erdmann, V. A. et al. 1985 Collection of published 5S, 5.8S and 4.5S ribosomal RNA sequence. *Nucl. Acids Res.* **13**, Suppl.: r105—54.

Gu Xian-rong et al. 1982 5S RNA sequence from the *Philosamia* silkworm: evidence for variable evolutionary rates in insect 5S RNA. *Nucl. Acids Res.* **10**: 5711—6.

Kimura, M. and Ohta, T. 1972 On the stochastic model for estimation of mutational distance between homologous proteins. *J. Mol. Evol.* **2**: 87—90.

Komiya, H. et al. 1981 Nucleotide sequence of 5S rRNA from the posterior silkglands of *Bombyx mori*. *J. Biochem.* **89**: 717—22.

THE STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF 5S rRNA FROM SEVERAL INSECT SPECIES

CAO GONG-JIE GU XIANG-RONG JIANG PENG FENG XIAO-LI QI GUO-RONG

(Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai)

After comparing all the known sequences of eleven 5S rRNAs from insects, we find there are fewer nucleotide differences in the species from the same family or same order as compared with those from different families or orders. The 5S rRNA structures of insects display high homology; aside from the conserved sites possessed by all eukaryotes, they have special sites of their own and the sum of the conserved and semiconserved sites (with only two different nucleotide residues in the same position) in the structure are nearly 100% (Fig. 3). We also make a phylogenetic tree using the empirical formula proposed by Kimura and Ohta (1972). The results indicate that the conclusions drawn from molecular evolution are basically consistant with those from conventional classification.

Key words 5S rRNA——nucleotide sequence——evolution——phylogenetic tree